Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

---

# PROLIFERATION VON GLYCOGENSPEICHERHERDEN IN DER RATTENLEBER NACH APPLIKATION VON N-NITROSOMORPHOLIN

## - Autoradiographische Untersuchungen mit $^{3}$H-Thymidin-Dauerinfusion -[+]

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Karl-Otto Haditsch

aus Gerabronn/Württemberg

Würzburg, den 10. 11. 1980

[+] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft SFB 105

1981

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

---

# PROLIFERATION VON GLYCOGENSPEICHERHERDEN IN DER RATTENLEBER NACH APPLIKATION VON N-NITROSOMORPHOLIN

## - Autoradiographische Untersuchungen mit $^{3}$H-Thymidin-Dauerinfusion -[+]

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Karl-Otto Haditsch

aus Gerabronn/Württemberg

Würzburg, den 10. 11. 1980

[+] Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft SFB 105

Referent: Professor Dr. med. W.-D. Heine

Korreferent: Professor Dr. med. H.-W. Altmann

Dekan: Professor Dr. med. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 2. 2. 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Meinen Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543520_0139

# Inhaltsverzeichnis


| | | Seite |
|---|---|---|
| A. | Einleitung | 1 |
| B. | Material und Methodik | 5 |
| | 1. Versuchstiere | 5 |
| | 2. Versuchsanordnung | 5 |
| | 3. 2/3 Teilhepatektomie | 6 |
| | 4. Autoradiographische Methode | 7 |
| | 5. Auswertung der Autoradiogramme | 7 |
| | 6. Einteilung und Identifizierung der Glycogenspeicherherde | 8 |
| C. | Ergebnisse und Erörterungen | 12 |
| | 1. Das histologische Bild bei unterschiedlicher Dosierung von N-Nitrosomorpholin | 12 |
| | 2. Lokalisation der Glycogenspeicherherde | 14 |
| | 3. Markierungsindex von Glycogenspeicherherden | 14 |
| | a) Proliferation nach 12mg% NNM 70 Tage | 24 |
| | b) Proliferation nach 12mg% NNM 70 Tage + TH | 26 |
| | c) Proliferation nach 50mg% NNM 21 Tage | 29 |
| | d) Proliferation nach 50mg% NNM 21 Tage + TH | 30 |
| | e) Vergleich der vier Gruppen Glycogenspeicherherde | 35 |
| | 4. Der Markierungsindex von Glycogenspeicherherden in Abhängigkeit von der Zeit nach Absetzen von NNM | 36 |
| D. | Zusammenfassung | 45 |
| | Literaturverzeichnis | I |

## A. E I N L E I T U N G

Das cyclische Nitrosamin N-Nitrosomorpholin (NNM) erzeugt an der Rattenleber mit hoher Ausbeute hepatozelluläre Carcinome (DRUCKREY et al., 1961; BANNASCH und MÜLLER, 1964). Seit Sasaki und Yoschida stehen im Mittelpunkt der Leberparenchymveränderungen, die als unmittelbare Vorstufe solcher hepatozellulärer Carcinome diskutiert werden, die sog. "hyperplastischen Knoten" (vgl. FARBER, 1963; REUBER, 1965; BANNASCH, 1968). Makroskopisch imponieren sie als kleine graue oder gelbliche Knötchen. Von den ausgesprochenen Knotenbildungen wurden "hyperplastische Areale" abgegrenzt (REUBER, 1965). Dabei handelt es sich um zirkumskripte Herde, die sich durch scheinbare Vermehrung und Vergrößerung der Parenchymzellen auszeichnen.

Nach Kitagawa (1971) zeigen Befunde an den hyperplastischen Knoten und Hepatomen, daß es hier nur zu einer schwachen oder nahezu negativen Antwort auf den Proliferationsreiz einer 2/3-Hepatektomie kommt - also bereits ein autonomes Wachstum vorliegt. Andererseits reagieren die hyperplastischen Areale der präcancerösen Rattenleber auf die partielle Hepatektomie ebenso wie das normale Parenchym mit einer starken Steigerung der Mitoserate. Sie unterliegen demnach noch den normalen Wachstumsregulationen. Ähnliche Beobachtungen haben Rabes und Mitarbeiter (1972) bei autoradiographischen Studien an den sog. "Enzymdefektherden" der Diethylnitrosamin-vergifteten Rattenleber gemacht.

Diese Aussagen über das Wachstumsverhalten von "hyperplastischen Arealen" bzw. "hyperplastischen Knoten" scheint überprüfenswert, da nicht von "dem" hyperplastischen Areal oder Knoten die Rede sein kann. Umfangreiche cytochemische und elektronenmikroskopische Studien an verschiedenen Ver-

suchsmodellen haben nämlich gezeigt, daß cytologisch ganz uneinheitliche Gewebsveränderungen unter den histologischen Begriffen "hyperplastisches Areal" bzw. "hyperplastischer Knoten" subsummiert werden. Diese zelluläre Heterogenität der hyperplastischen Knoten erschwert natürlich die Beurteilung ihres biologischen Verhaltens.

Es lassen sich auf Grund bestimmter Schädigungsmuster des Cytoplasmas vier pathologische Zelltypen des präneoplastischen Leberparenchyms gegeneinander abgrenzen:

1. Klare Glykogenspeicherherde
2. Azidophile Zellen, die größtenteils ebenfalls reichlich Glykogen speichern
3. Fettspeicherzellen
4. Basophile Zellen

(BANNASCH und MÜLLER, 1964; BANNASCH, 1967; BANNASCH, PAPENBURG und ROSS, 1972)

Nach Bannasch ist es vorzuziehen, die hyperplastischen Areale rein deskriptiv als "Glykogenspeicherherde" oder als "fokale Glykogenosen" zu bezeichnen, da bislang nicht erwiesen ist, daß dem Auftreten solcher Herde unbedingt eine Zellvermehrung (Hyperplasie) vorausgeht.
Aus den morphologischen Befunden wurde abgeleitet, die präcancerösen Hepatocyten seien vor allem durch eine übermäßige Glykogenspeicherung gekennzeichnet, die im Verlauf der Zelltransformation allmählich wieder verschwindet.
Auch nach anderen hepatotropen Carcinogenen wurden in den letzten Jahren ähnliche Beobachtungen gemacht (EPSTEIN et al., 1967; LESCH et al., 1968; SCHAUER und KUNZE, 1968; FRIEDRICH-FREKSA et al., 1969; SYDROW u. FEY, 1969; FORGET u. DOUST, 1970).

Daß auch beim Menschen eine enge Beziehung zwischen hepatozellulärer Glykogenose und Hepatombildung besteht, zeigen Untersuchungen an Punktaten menschlicher Leberzelltumoren (BANNASCH u. KLINGE, 1971). Altmann (1977) konnte zeigen, daß Glykogenspeicherherde in der menschlichen Leber unter dem Einfluß von synth. Sexualhormonen und oralen Contra-

ceptiva wie in hochdifferenzierten Hepatomen entstehen können. Darüberhinaus weisen einige Fälle von angeborenen Glykogenspeicherkrankheiten Typ I (v. Gierke) mit Ausbildung von hepatozellulären Tumoren im Alter von 7 - 23 Jahren auf einen pathogenetischen Zusammenhang zwischen hepatozellulärer Glykogenose und Hepatombildung hin (MASON u. ANDERSON, 1955; HOLLING, 1963; BAUER 1964; FRAUMENI, MILLER u. HILL, 1968; ZANGENEH, LIMBECK, BROWN, EMCH, ARCASOY, GOLDENBERG und KELLEY, 1969; SPYCHER u. GITZELMANN, 1971).

Interessant im Zusammenhang mit der Frage, ob die Glykogenspeicherzellen tatsächlich als Vorläufer späterer Carcinomzellen anzusehen sind, ist die Tatsache, daß die Glykogenspeicherherde auch nach Absetzen der Carcinogenzufuhr lange persistieren. In langfristigen Stopversuchen ist die hepatozelluläre Glykogenose in vielen Parenchymzellen noch 1 1/2 Jahre nach Einstellung der Giftzufuhr nachzuweisen (BANNASCH, PAPENBURG u. ROSS, 1972). Diese Persistenz der Glykogenspeicherherde in Stopversuchen spricht für eine irreversible, genetisch fixierte Läsion auf der Ebene der Nucleinsäuren, wie sie heute generell für carcinogene Zellschädigungen angenommen wird (vgl. Farber 1970).
Die Irreversibilität der ursächlichen Läsion wird besonders klar durch den Nachweis belegt, daß die fokale Glykogenose der Rattenleber schon durch einmalige Applikation von Diethylnitrosamin zu erzeugen ist (SCHERER, HOFFMANN, EMMELOT und FRIEDRICH-FREKSA, 1972). Damit läßt sich bei der Carcinogen-induzierten Glykogenose eine Dosisabhängigkeit aufzeigen, wie sie nach unseren heutigen Kenntnissen von der Hepatocarcinogenese für eine präcanceröse Parenchymalteration zu erwarten ist (vgl. DRUCKREY, 1967). Dieses Verhalten führte zur Formulierung eines "one-hit Mechanismus" zur Beschreibung des Induktionsprozesses der Glykogenspeicherzellen (SCHERER u. EMMELOT, 1975).

Es stellt sich die Frage, ob nun die klaren Glykogenspeicherzellen selbst schon als Tumorzellen zu werten sind und ein autonomes Wachstumsverhalten aufweisen.
Die vorliegende proliferationskinetische Studie soll der Beantwortung dieser Frage einen Schritt näher kommen.

Zu diesem Zweck untersuchten wir das Proliferationsverhalten der Glykogenspeicherherde nach Gabe unterschiedl. Dosen des Carcinogens N-Nitrosomorpholin (NNM) mit und ohne 2/3 Teilhepatektomie (TH).

## B. MATERIAL UND METHODIK[+]

### 1. Versuchstiere

Wir verwendeten für unsere Versuche eben ausgewachsene, männliche Sprague-Dawley-Ratten. Diese erhielten N-Nitrosomorpholin entweder in der Konzentration von 50mg% für 21 Tage (durchschnittlich aufgenommene Giftmenge 138mg) oder 12mg% für 70 Tage (durchschnittlich aufgenommene Giftmenge 167mg) im Trinkwasser kontinuierlich appliziert. Zu verschiedenen Zeiten nach Absetzen des Giftes wurden Gruppen von jeweils 8 Tieren aus der Versuchsreihe gebildet, die zur genaueren Ermittlung von Proliferationsraten eine 10tägige $^{3}$H-Thymidin-Dauerinfusion zur Erfassung aller in dieser Zeit neugebildeteten Zellelemente erhielten. Jeweils die Hälfte einer solchen Gruppe wurde vor Beginn der Dauerinfusion 2/3-teilhepatektomiert. An den später gewonnenen Regeneraten der Leber wurden histologische und autoradiographische Untersuchungen vorgenommen.

### 2. Versuchsanordnung

Bei der Durchführung der Versuche lassen sich folgende Unterteilungen treffen:

a) Gabe von 12mg% NNM über 70 Tage und Tötung 247, 275 und 353 Tage nach Absetzen von NNM
b) Gabe von 12mg% NNM über 70 Tage, Tötung 247, 273 und 353 Tage nach Absetzen von NNM, wobei der Tötung 10 Tage vorher eine 2/3 Teilhepatektomie vorausging.

---

[+] Fräulein Kohaut danke ich herzlich für ihre Mitarbeit

c) Gabe von 50mg% NNM über 21 Tage, Tötung 50, 85, 285 und 292 Tage nach Absetzen von NNM.
d) Gabe von 50mg% NNM über 21 Tage, Tötung 50, 85 und 312 Tage nach Absetzen von NNM, wobei der Tötung 10 Tage vorher eine 2/3 Teilhepatektomie vorausging.

Untersucht wurde das unterschiedliche Proliferationsverhalten der Glykogenspeicherherde und des Restparenchyms.

-- nach verschiedener Gesamtdosis des Carcinogens,
-- nach unterschiedlichem Zeitintervall zwischen Absetzen des Carcinogens und Tötung
-- nach unterschiedlichem Zeitintervall zwischen Absetzen des Carcinogens und Teilhepatektomie
-- mit und ohne Proliferationsreiz durch 2/3 Teilhepatektomie

## 3. 2/3 Teilhepatektomie

Bekanntlich spielt bei der Definition eines malignen Tumors die Feststellung einer Wachstumsautonomie eine entscheidende Rolle. Malignes Tumorgewebe wächst unabhängig von den homoiostatischen Regulationen des restlichen gesunden Gewebes. Die Wirksamkeit homoiostatischer Regulationen läßt sich an der Leber besonders gut nach partieller Hepatektomie zeigen. Innerhalb kürzester Zeit wird der Parenchymverlust durch exzessive Proliferation des Restparenchyms ausgeglichen.
Es lag deshalb nahe, die Beeinflußbarkeit der Proliferation in der Leber und insbesondere in den Glykogenspeicherherden an der partiell resezierten Leber NNM-gefütterter Tiere zu untersuchen.

4. Autoradiographische Methode

Die nach der Tötung mittels Dekapitation in leichtem Ätherrausch entnommene Leber wurde für 48 Stunden in neutralem 10%igem Formalin bei +4 °Celsius fixiert. Dem Formalin war inaktives Thymidin zugesetzt. Vor der Paraffineinbettung wurden die üblichen Standardverfahren durchgeführt (24-stündiges Wässern, aufsteigende Alkoholreihe, Methylbenzoat, Benzol). Nach dem Schneiden und der Entparaffinierung wurden die 3-4 µ dicken Schnitte nochmals mit einer Waschlösung inaktiven Thymidins (0,5mg/ml) behandelt. In dieser hohen Konzentration diente das inaktive Thymidin zum Austausch des freien, nicht an neugebildete DNS gebundenes $^{3}$H-Thymidin.
Die Autoradiographie erfolgte nach dem "stripping" film Verfahren (Kodak AR 10, vgl. Pelc 1947, 1956; Maurer 1959; Lit. bei Schultze 1968).
Die Nachfärbung erfolgte mit Hämotoxilin-Eosin. Die Expositionszeit betrug 10 Tage.

5. Auswertung der Autoradiogramme

Die Auswertung der Autoradiogramme erfolgte mit einem Zeiss-Mikroskop bei 320-facher Vergrößerung. Es wurde dabei wie bei der Zeiss-Thoma'schen Methode der Erythrozytenzählung vorgegangen. Die innerhalb und nur auf der linken und unteren Linie des Okular-Netz-Mikrometers liegenden Kerne wurden erfaßt. Für die Zählbarkeit der Kerne war Voraussetzung, daß ihre Membran beim Spielen mit der Mikrometerschraube mindestens teilweise deutlich hervortrat.

Folgende quantitative Auswertungen wurden vorgenommen:

a) Gesamtzellzahl der Glykogenspeicherherde
b) Zahl der markierten Glykogenspeicherzellen
c) Zahl der in Mitose stehenden Glykogenspeicherzellen
e) Anzahl der von 1000 Restparenchymzellen markierten Zellen
f) Anzahl der von 1000 Restparenchymzellen in Mitose stehenden Leberzellen

Aufgrund dieser Zählungen erhielt man den

$^{3}$H-Markierungsindex = Prozentsatz DNS-synthetisierender Kerne

und den

Mitoseindex = Prozentsatz von Mitosen bezogen auf alle ausgezählten Kerne

## 6. Einteilung und Identifizierung der Glykogenspeicherherde

Die bereits erwähnte zelluläre Heterogenität der hyperplastischen Knoten bzw. hyperplastischen Areale ließ bisher keine eindeutige Aussage bezüglich ihres biologischen Verhaltens zu. Auch die Untersuchungen der Enzymdefektherde bzgl. ihres Wachstumsverhaltens ergaben sehr unterschiedliche Aussagen (RABES, SCHOLZE, JANTSCH, 1972).
Es war deshalb erstrebenswert, nur ganz exakt definierte, sich untereinander stark ähnelnde Glykogenspeicherherde proliferationskinetisch zu untersuchen.

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen führten zur Einteilung der 180 gefundenen Glykogenspeicherherde in vier Gruppen:

Gruppe a: Die Kerngröße dieser Herde unterscheidet sich kaum von der Größe der Restparenchymkerne. Die Zahl der die Herde bildenden Zellen liegt im Bereich

von 80-200 Zellen. Glykogenspeicherherde mit diesen Kerngrößen und geringeren Zellzahlen wurden nicht gefunden (Abb. 1).

Gruppe A: Kerngröße wie bei Gruppe a, jedoch liegt die Zahl der die Herde bildenden Zellen im Bereich von ungefähr 250-1500 Zellen (Abb. 2).

Gruppe b: Die Kerngröße dieser Herde liegt stark über der Größe der Restparenchymkerne. Die Zahl der die Herde bildenden Zellen liegt im Bereich von 60-190 (Abb. 3).

Gruppe B: Die Kerngröße wie bei Gruppe b, jedoch liegt die Zahl der die Herde bildenden Zellen im Bereich von ungefähr 200-1400.

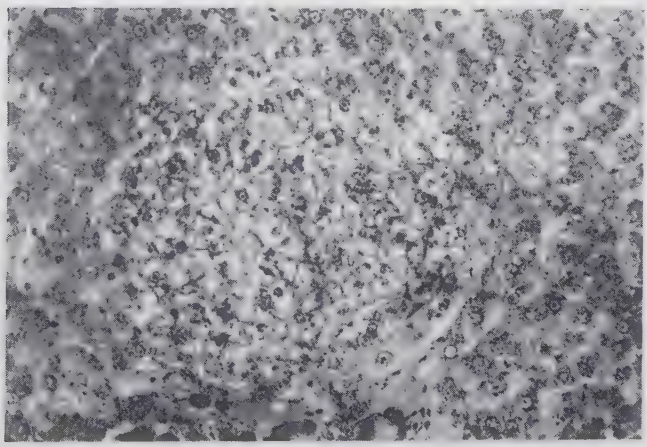


Abb. 1: Glykogenspeicherherd der Gruppe a.
Vergrößerung ca. 320fach; H.-E. Färbung.

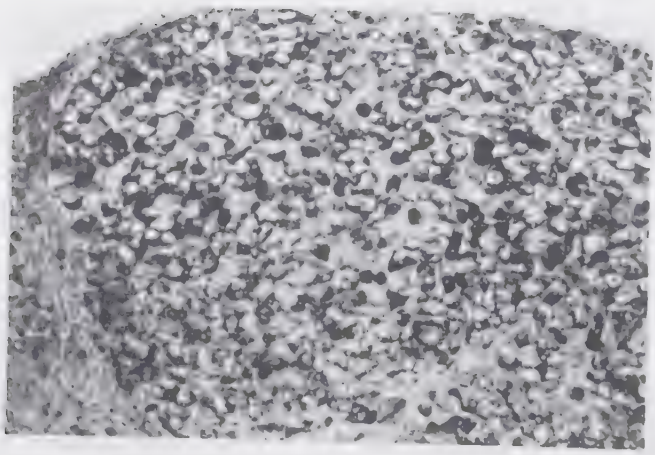


Abb. 2: Glykogenspeicherherd der Gruppe A.
Vergrößerung ca. 320fach; PAS-Färbung.

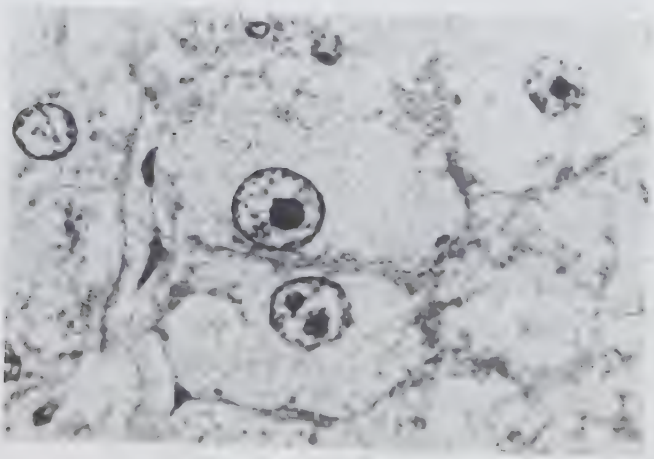


Abb. 3: Glykogenspeicherherdzellen der Gruppe b.
Vergrößerung ca. 3200fach; H.-E. Färbung.

Die Herde von Gruppe a und Gruppe b waren bei der verwendeten 320fachen Vergrößerung in einem einzigen Blickfeld zu erfassen, und waren unscharf von relativ normalen Leberepithelzellen umgeben. Die Herde von Gruppe A und Gruppe B wurden in mäanderförmigem Weg Blickfeld für Blickfeld ausgezählt. Sie zeigten sich meist rund bis oval und waren vom Restparenchym deutlich abgegrenzt.

Die Identifizierung der klaren Glykogenspeicherherde bereitete meist keine besonderen Schwierigkeiten. In deckungsgleichen Serienschnitten ließen sich die Glykogenspeicher mittels Haematoxilin-Eosin, PAS- und Pearse-Färbungen gut identifizieren. Im H.-E. Präparat zeigen die Glykogenspeicherzellen große optisch leere Räume, in deren Mitte der Zellkern frei zu schweben scheint. Diese an Pflanzenzellen erinnernden Glykogenspeicherzellen sind in vielen Herden mit acidophilen, manchmal auch mit basophilen Zellen vergesellschaftet. Solch heterogene Herde wurden jedoch nicht zur Auswertung herangezogen, um das Untersuchungsergebnis der wirklich klaren Glykogenspeicherherde nicht zu verzerren.

Die Glykogenspeicherzellen fallen außerdem noch durch ihren deutlich sichtbaren Nucleolus auf.
Die Trabekelstruktur des Leberparenchyms ist durch Dissoziation der Leberzellen in den Herden meist verlorengegangen.

## C. ERGEBNISSE UND ERÖRTERUNGEN

### 1. Das histologische Bild bei unterschiedlicher Dosierung von NNM

Bei den verwendeten Dosierungen 12mg% NNM und 50mg% NNM fallen lichtmikroskopisch einige deutliche Unterschiede im histologischen Bild auf. Während bei der 50mg% Dosierung die Glykogenspeicherherde deutlich von Bindegewebe umgeben sind, neben den Herden eine Lebercirrhose besteht, fehlt dieses Bild in den Lebern nach 12mg% Dosierung.
Dies läßt sich gut in Einklang mit den Erfahrungen in jüngster Zeit bringen, daß sich hepatozelluläre Tumoren auch in völlig Cirrhose-freien Lebern entwickeln können.
Die häufige Kombination von Lebercirrhose und Leberzellkrebs beim Menschen hatte zu der Vorstellung geführt, die Cirrhose sei eine wesentliche Voraussetzung des Leberzellcarcinoms (SABOURIN, 1881).

Übereinstimmend haben mehrere Arbeitsgruppen am Beispiel der Nitrosamin-vergifteten Rattenleber festgestellt, daß das Zusammentreffen von Cirrhose und Carcinom in erster Linie ein Dosisproblem ist: Bei Anwendung niedriger Carcinogendosierung treten die Geschwülste ohne jede Begleitcirrhose auf (ARGUS u. HOCHLIGETI, 1961; THOMAS, 1961; DRUCKREY, SCHMÄHL, DISCHLER u. SCHILDBACH, 1962; GRUNDMANN u. SIEBURG, 1962; BANNASCH u. MÜLLER, 1964; TERRACINI, MAGEE u. BARNES, 1967; BANNASCH, 1968, 1969).
Nach dem Auftreten von Glykogenspeicherherden sowohl mit als auch ohne Begleitcirrhose in unseren Präparaten, können auch wir folgern, daß die Carcinogen-induzierte Cirrhose durch die unspezifisch toxische "Konzentrationswirkung" dieser Gifte bedingt ist und nicht als eine obligate Vorstufe, sondern lediglich als fakultative Begleiterscheinung der Hepatocarcinogenese gelten kann.

Sowohl in Lebern nach 50mg% Dosierung als auch in Lebern nach 12mg% Dosierung treten Herde aller Gruppen (a,A,b,B) auf. Während die Herde aus der Gruppe a und b in Lebern nach 50mg% Dosierung noch nicht von Bindegewebe umgeben sind, erscheinen die Herde aus Gruppe A und B durchweg von einer bindegewebigen Kapsel umgeben.
Besonders auffallend zeigt sich in den Lebern nach 50mg% Dosierung, daß in der ersten Zeit nach Absetzen des Carcinogens, also nach 50 und 85 Tagen nur die großen Herde aus Gruppe A und B auftreten, unabhängig davon, ob vorher eine 2/3 Teilhepatektomie vorgenommen wurde oder nicht. Bei den Tieren nach 12mg% Dosierung erfolgte die erste Tötung erst 247 Tage nach Absetzen des Carcinogens und hier traten unabhängig von Teilhepatektomie gleich sämtliche Gruppen von Herden auf. Dies findet man auch nach den 50mg% Dosierungen, wenn der Tötungszeitpunkt etwa 285 Tage nach dem Absetzen des Carcinogens liegt.
Man erhält den Eindruck, daß umso mehr neue Herde auch von neuen Kategorien entstehen, je länger der Zeitraum zwischen Absetzen des Carcinogens und Tötungszeitpunkt ist.

Ähnliche Beobachtungen wurden schon durch Rabes und Mitarbeiter (1972) bei Versuchen mit kontinuierlicher Gabe von Diethylnitrosamin gemacht. Die Anzahl der Enzymdefektherde nahm hier bei zunehmender Dauer der Carcinogengabe anfangs exponentiell zu, wobei das Auftreten kleiner und großer Herde ohne Zwischengrößen für die Existenz uneinheitlicher Gruppen sprach. Jedoch waren bei Rabes zunächst die kleineren Herde und dann die großen Herde aufgetreten.

2. Lokalisation der Glykogenspeicherherde

Während bei den großen Herden der Gruppen A und B keine bestimmten Lokalisationen festgestellt werden konnten, fanden wir Herde der Gruppen a und b in erster Linie periportal.
Das deckt sich gut mit Beobachtungen von Bannasch und Müller (1964) und Bannasch (1968). Rabes (1972) und Scherer und Emmelot (1976) fanden diese bevorzugte Lokalisation auch bei ihren Enzymdefektherden.
Es wäre demnach denkbar, daß die schon physiologischerweise höhere Teilungsaktivität der Peripherie das Manifestwerden von Störungen auf genetischer Ebene begünstigt.

3. Der Markierungsindex von Glykogenspeicherherden

Wie aus den Tabellen 1-8 zu ersehen ist, variieren die Markierungsindices von Glykogenspeicherungen innerhalb eines Tieres nur sehr gering. Zwischen den verschiedenen Tieren können jedoch beträchtliche Unterschiede auftreten. So haben die verschiedenen Glykogenspeicherherde vom Typ a einen durchschnittlichen Markierungsindex von 37,0 % in Versuch Nr. 3844, von 3,5 % in 3845, und von 18,7% in 3846 (Tab. 1). Meist jedoch weichen die Markierungsindices einer bestimmten Gruppe von Glykogenspeicherherden erstaunlich gering voneinander ab. (Siehe Typ A in Tab. 2; Typ a, Typ b in Tab. 4; Typ A, Typ B in Tab. 7)
Während auch die Markierungsindices der Restparenchyme sehr häufig nur geringe Unterschiede zwischen den Versuchstieren gleicher Versuchsbedingung aufweisen, variieren die Markierungsindices der Restparenchyme in den Fällen, wo auch eine Varianz der Markierungsindices von Glykogenspeicherherden eines Types beobachtet werden kann. (Tab. 1)
Ist der Markierungsindex des Restparenchyms eines bestimmten Versuchstieres einer Gruppe gleicher Versuchsbedingung

vergleichsweise niedrig, so liegt auch der Markierungsindex der Glykogenspeicherherde unter dem der Glykogenspeicherherde der anderen Tiere gleicher Versuchsbedingung (Tab. 1 u. 3).
Dies legt den Schluß nahe, daß das Ausmaß der DNS-Synthese der Glykogenspeicherherde in gewisser Relation zur DNS-Synthese des Restparenchyms steht.

| Vers. Nr. | Typ a | Typ A | Typ b | Typ B | Rest |
|---|---|---|---|---|---|
| 3844 | 47,7 | | 44,8 | | |
| | 41,3 | | 61,5 | | |
| | 35,0 | | 48,9 | | |
| | 42,9 | | Ø 51,7% | | |
| | 18,5 | | | | |
| | Ø 37,0% | | | | 6,7% |
| 3845 | 4,3 | | | | |
| | 2,0 | | | | |
| | 2,3 | | | | |
| | 3,9 | | | | |
| | 4,8 | | | | |
| | Ø 3,5 % | | | | 0,85% |
| 3846 | 22,4 | | | | |
| | 11,6 | | | | |
| | 31,5 | | | | |
| | 10,9 | | | | |
| | 17,2 | | | | |
| | Ø 18,7 % | | | | 3,9% |
| 3847 | | 55,3 | | | |
| | | 60,3 | | | |
| | | 62,2 | | | |
| | | Ø 59,4 % | | | 3,5% |

Tab. 1: Markierungsindex der verschiedenen Glykogenspeicherherde in der Leber von vier Tieren unter gleicher Versuchsbedingung 12mg% NNM 70 Tage lang, Tötung 247 Tage nach Absetzen von NNM

| Vers. Nr. | Typ a | Typ A | Typ b | Typ B | Rest |
|---|---|---|---|---|---|
| 3887 | | 37,7 | | | |
| | | 24,4 | | | |
| | | 19,6 | | | |
| | | 28,5 | | | |
| | | 20,3 | | | |
| | | Ø 26,1 % | | | 7,2 % |
| 3888 | 8,5 | 31,8 | 8,7 | 28,2 | |
| | 10,8 | 30,1 | 21,8 | 17,1 | |
| | 8,0 | 13,6 | 15,0 | 12,4 | |
| | 15,0 | 22,0 | Ø 15,2 % | 11,4 | |
| | Ø 10,5 % | Ø 24,4 % | | 10,5 | |
| | | | | Ø 15,9 % | 4,4 % |

Tab. 2: Markierungsindices der verschiedenen Glykogenspeicherherde in der Leber von zwei Tieren unter gleicher Versuchsbedingung: 12mg% NNM 70 Tage lang, Tötung 353 Tage nach Absetzen von NNM

| Vers. Nr. | Typ a | Typ A | Typ b | Typ B | Rest |
|---|---|---|---|---|---|
| 3841 | 84,2 | | 88,5 | | |
| | 85,8 | | 96,1 | | |
| | 92,4 | | 98,3 | | |
| | 91,6 | | 96,8 | | |
| | Ø 88,5 % | | Ø 94,9 % | | 57,0 % |
| 3842 | 48,2 | | | | |
| | 49,6 | | | | |
| | 50,7 | | | | |
| | Ø 49,5 % | | | | 41,2 % |
| 3843 | 82,2 | 91,7 | | | |
| | 77,6 | 87,6 | | | |
| | Ø 79,9 % | Ø 89,6 % | | | 76,3 % |

Tab.3: Markierungsindices verschiedener Glykogenspeicherherde in der Leber von drei Tieren unter gleicher Versuchsbedingung: 12mg% NNM 70 Tage lang, 2/3 Teilhepatektomie 237 Tage nach Absetzen von NNM

| Vers. Nr. | Typ a | Typ A | Typ b | Typ B | Rest |
|---|---|---|---|---|---|
| 3890 | 58,8 | 80,7 | 76,2 | 85,6 % | 73,3% |
| | 74,2 | 77,1 | 75,8 | | |
| | Ø 66,5 % | Ø 78,9 % | Ø 76,0 % | | |
| 3891 | 69,4 | | 74,0 | | |
| | 69,3 | | 69,0 | | |
| | Ø 69,35 % | | Ø 71,5 % | | 78,7 % |

Tab. 4: Markierungsindices verschiedener Glykogenspeicherherde in der Leber von zwei Tieren unter gleicher Versuchsbedingung: 12mg% NNM 70 Tage lang, 2/3 Teilhepatektomie 343 Tage nach Absetzen von NNM

| Vers. Nr. | Typ a | Typ A | Typ b | Typ B | Rest |
|---|---|---|---|---|---|
| 3539 | | 37,3 | | 59,5 | 9,4 % |
| | | 40,6 | | 54,2 | |
| | | 36,6 | | 52,1 | |
| | | Ø 38,2 % | | Ø 55,2 % | |
| 3540 | | 37,0 | | 63,6 | 10,0 % |
| | | 18,6 | | 53,4 | |
| | | 32,9 | | 59,7 | |
| | | Ø 29,0 % | | 50,7 | |
| | | | | Ø56,8 % | |

Tab. 5: Markierungsindices verschiedener Glykogenspeicherherde in der Leber von zwei Tieren unter gleicher Versuchsbedingung: 50mg% NNM 21 Tage, Tötung 50 Tage nach Absetzen von NNM

| Vers. Nr. | Typ a | Typ A | Typ b | Typ B | Rest |
|---|---|---|---|---|---|
| 3868 | 8,5 | 27,1 | | | 3,6 % |
| | 17,5 | 23,4 | | | |
| | 20,0 | 23,7 | | | |
| | Ø 15,3 % | Ø 24,7 % | | | |
| 3869 | | 22,0 | | 59,0 % | 18,2 % |
| | | 28,2 | | | |
| | | 20,4 | | | |
| | | Ø 23,5 % | | | |
| 3870 | 24,8 | | | | |
| | 13,5 | | | | |
| | 14,9 | | | | |
| | Ø 17,7 % | | | | 16,1 % |

Tab. 6: Markierungsindices verschiedener Glykogenspeicherherde in der Leber von drei Tieren unter gleicher Versuchsbedingung 50mg% NNM 21 Tage, Tötung 292 Tage nach Absetzen von NNM

| Vers. Nr. | Typ a | Typ A | Typ b | Typ B | Rest |
|---|---|---|---|---|---|
| 3541 | | 74,9 | | 78,8 | 85,2 % |
| | | 76,5 | | 83,3 | |
| | | 75,0 | | 85,7 | |
| | | Ø 75,5 % | | Ø 82,6 % | |
| 3542 | | 89,5 | | 84,9 | 89,7 % |
| | | 64,0 | | 85,7 | |
| | | 78,9 | | 85,9 | |
| | | Ø 77,5 % | | 84,9 | |
| | | | | 93,3 | |
| | | | | 87,5 | |
| | | | | Ø 87,0 % | |

Tab. 7: Markierungsindices verschiedener Glykogenspeicherherde in der Leber von zwei Tieren unter gleicher Versuchsbedingung: 50mg% NNM 21 Tage, 2/3 Teilhepatektomie 40 Tage nach Absetzen von NNM

| Vers. Nr. | Typ a | Typ A | Typ b | Typ B | Rest |
|---|---|---|---|---|---|
| 3838 | 78,0 | | | | 83,6 % |
| | 92,7 | | | | |
| | 94,0 | | | | |
| | 95,1 | | | | |
| | Ø 90,0 % | | | | |
| 3840 | | 78,9 | 87,4 | 88,1 | 47,0 % |
| | | 91,9 | 94,4 | 93,3 | |
| | | 82,5 | 77,6 | Ø 90,7 % | |
| | | Ø 84,4 % | Ø 86,4 % | | |

Tab. 8: Markierungsindices verschiedener Glykogenspeicherherde in der Leber von zwei Tieren unter gleicher Versuchsbedingung: 50mg% NNM 21 Tage, 2/3 Teilhepatektomie 302 Tage nach Absetzen von NNM

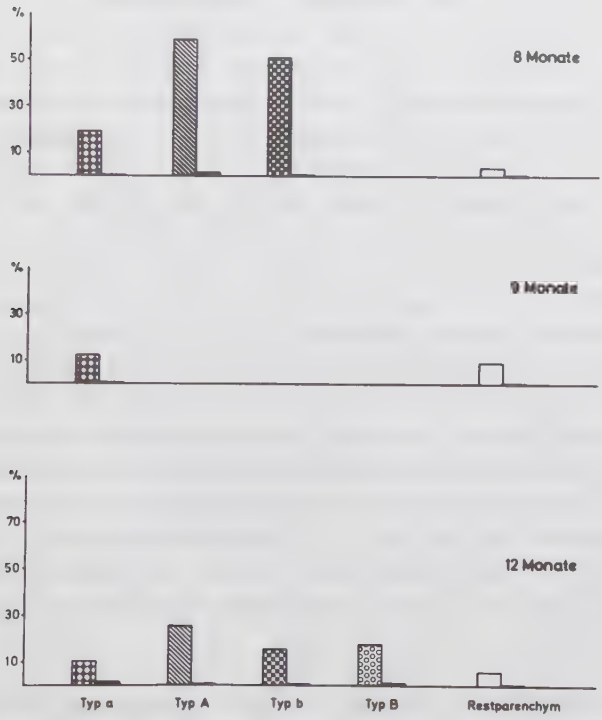
Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß es Versuchstiere einer bestimmten Versuchsbedingung gibt, die ein oder Zwei Typen von Glykogenspeicherherden aufweisen, zu deren Bildung es in der Leber anderer Versuchstiere gleicher Versuchsbedingungen nicht kam (Tab. 1-8).

Es wurde bereits schon erwähnt, daß sowohl mit als auch ohne Teilhepatektomie umso mehr verschiedene Typen von Glykogenspeicherherden auftraten, je weiter der Zeitpunkt des Absetzens von NNM zurücklag (Tab. 1-8).

a) Proliferation nach 12mg% NNM 70 Tage

Die Figur 1 zeigt in Stabdiagrammen die Markierungs- und Mitoseindices der Glykogenspeicherherde und Restparenchyme in Lebern von Tieren, die 12mg% NNM 70 Tage lang erhielten. Die Tötung erfolgte 8, 9 und 12 Monate nach Absetzen von NNM. Daraus ist deutlich ersichtlich, daß die Werte der Glykogenspeicherherde in jedem Fall über den Werten der Restparenchyme liegen. Bei unseren Kontrolltieren liegen die Markierungs- und Mitoseindices der Leberparenchyme immer unter denen von den Versuchstieren (Kontrolltiere: Markierungsindex durchscnittl. 2,0 %, Mitoseindex durchschnittl. 0,15 %).
Dies deutet auf eine gesteigerte Proliferation des Leberparenchyms nach Carcinogengabe hin, möglicherweise bedingt durch einen toxischen Effekt und darauffolgende Reparation der toxischen Parenchymnekrosen (vgl. BANNASCH, PAPENBURG u. ROSS, 1972).
Interessant ist auch das Verhältnis der Markierungsindices der verschiedenen Glykogenspeicherherdtypen zueinander: Markierungsindex $A > b > a$, oder im Fall der Versuchstiere, die 12 Monate nach Absetzen von NNM getötet wurden: $A > B > b > a$.

Daß die Absolutwerte bei den Tieren, die 12 Monate nach Absetzen von NNM getötet wurden, niedriger liegen als bei den anderen Tieren, soll Anlaß zur Diskussion in einem späteren Kapitel dieser Arbeit sein.




Figur 1: Glykogenspeicherherde nach NNM (12mg%, 70 d)
Markierungsindex (10 d Dauerinfusion), Mitoseindex

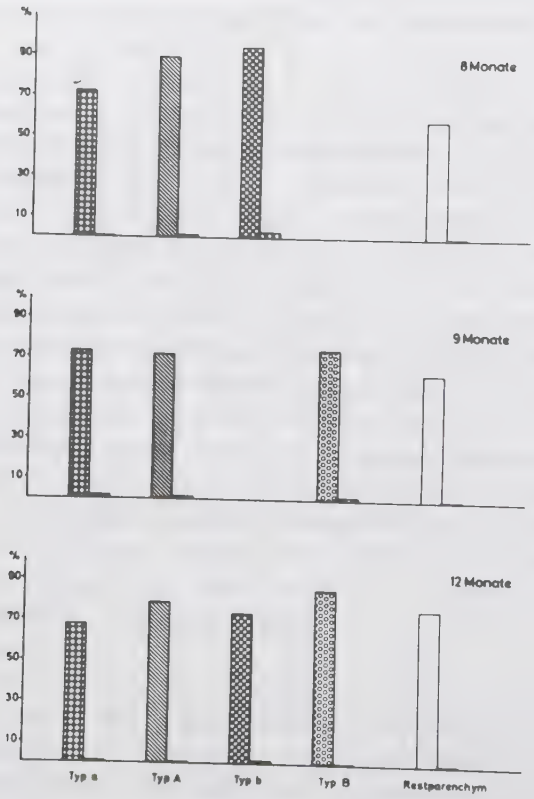
b) Proliferation nach 12mg% NNM 70 Tage + 2/3 TH

Figur 2 zeigt in Stabdiagrammen die Markierungs- und Mitoseindices der Glykogenspeicherherde und Restparenchyme in Lebern von Tieren, die 12mg% NNM 70 Tage lang erhielten. Nach 8, 9 und 12 Monaten erfolgte eine 2/3 Teilhepatektomie. Tötung dann jeweils 10 Tage nach der Teilhepatektomie.
Wieder ist ersichtlich, daß die Werte der Glykogenspeicherherde fast immer über den Werten der Restparenchyme liegen. Bei den Kontrolltieren lagen die Werte der Restparenchyme meist darüber (Kontrolltiere: Markierungsindex 70 %, Mitoseindex 0,75 %).
Das Leberparenchym reagierte nach NNM-Behandlung also geringer auf den Proliferationsreiz durch Teilhepatektomie als ohne NNM-Behandlung.
Hemmung der Proliferationsaktivität partiell resezierter Lebern wurde ohnehin schon nach Diethylnitrosaminbehandlung beobachtet (RABES, HARTENSTEIN, SCHOLZE, 1970).
Dieses Phänomen deckt sich mit den Anschauungen von Faber (1977). Demzufolge soll durch das Carcinogen die Ansprechbarkeit des Leberparenchyms auf einen Proliferationsreiz wie z.B. die Teilhepatektomie herabgesetzt sein. Die praeneoplastisch veränderten Zellen der Glykogenspeicherherde jedoch hätten einen Proliferationsvorteil erlangt und seien gegenüber dem cytotoxischen, proliferationshemmenden Effekt des Carcinogens resistent.

Eine andere Möglichkeit der Erklärung des obengeschilderten Phänomens bietet die sogenannte Chalonentheorie (BULLOUGH 1962ff, HEINE, 1973). Danach würde von proliferierenden Zellen in der G1-Phase ein Hemmstoff freigesetzt, der die in Funktionsphase sich befindenden Zellen am Übertritt in die Proliferationsphase hindert.
Auf unsere Beobachtungen angewendet heißt das:
Die stark proliferierenden Zellen der Glykogenspeicherherde

bilden Hemmstoffe, welche die Zellen des Restparenchyms an ihrer Proliferation behindern.
Im Vergleich zum Konzept von Faber ergäbe sich der proliferationsbehindernde Effekt auf das Restparenchym nicht unmittelbar aus der Carcinogeneinwirkung, sondern mittelbar aus den vermehrt gebildeten Hemmstoffen der zur Proliferation angeregten praeneoplastisch veränderten Glykogenspeicherherden.

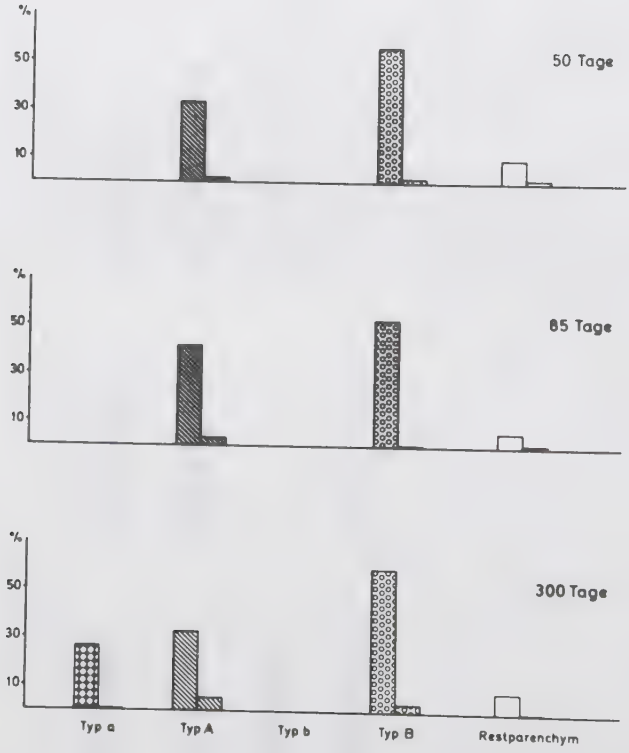
Auffallend ist auch hier wieder das Verhältnis der Markierungsindices der verschiedenen Glykogenspeicherherdtypen zueinander. Die Markierungsindices sind immer B > A und b > a. Bei den Tieren, die 12 Monate nach Absetzen von NNM getötet wurden, sind die Verhältnisse B > A > b > a.
Die Absolutwerte der Glykogenspeicherherde liegen deutlich über denen ohne Teilhepatektomie. Sowohl die Glykogenspeicherherde als auch die Restparenchyme haben auf den Proliferationsreiz mit Erhöhung von DNS-Synthese und Mitosen reagiert.
Erstaunlicherweise liegen im Falle der 2/3 Teilhepatektomie 12 Monate nach Absetzen von NNM die Werte der a-Herde und der b-Herde unter den Werten des Restparenchyms.




Figur 2: Glykogenspeicherherde nach NNM (12mg% 70 d)
+ 2/3 Teilhepatektomie.
Markierungsindex (10 d Dauerinfusion), Mitoseindex

c) Proliferation nach 50mg% NNM 21 Tage

Figur 3 zeigt die Verhältnisse nach Dosierung von 50mg% NNM über 21 Tage. Die Tötung erfolgte 50, 85 und 300 Tage nach Absetzen von NNM. Auch hier liegen die Markierungs- und Mitoseindices der Glykogenspeicherherde deutlich über den Werten des Restparenchyms. Im Vergleich zu den Restparenchymen der Lebern nach 12mg% Dosierung ohne Teilhepatektomie liegen die Markierungsindices der 50mg% Dosierung doppelt und dreifach so hoch. Die Reparation der wahrscheinlich hier stärkeren toxisch bedingten Parenchymnekrosen dürfte also ein größeres Ausmaß haben. Die Relation der Markierungsindices der verschiedenen Glykogenspeicherherdtypen zeigt sich durchweg als $B > A > a$.

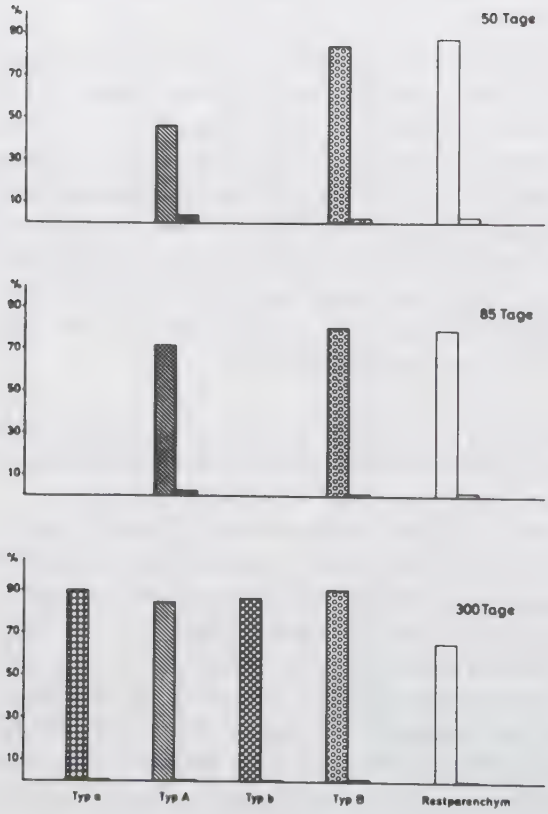



Figur 3: Glykogenspeicherherde nach NNM (50mg%, 21d)
Markierungsindex (10 d Dauerinfusion), Mitoseindex

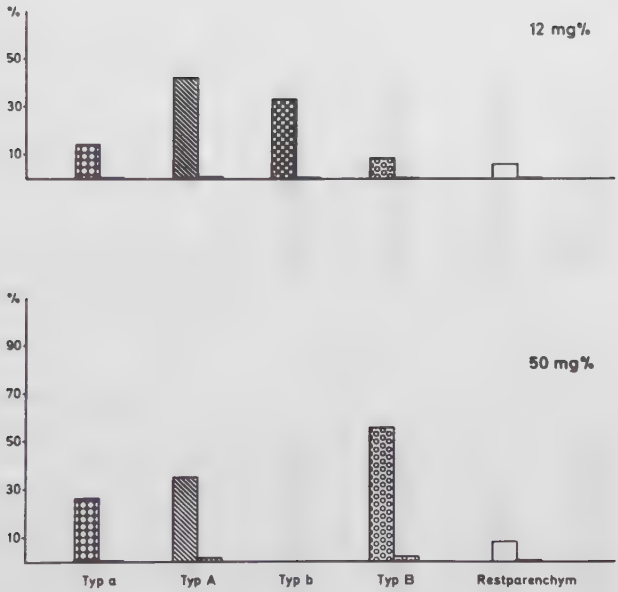
d) Proliferation nach 50mg% NNM 21 Tage + TH

Figur 4 zeigt die Verhältnisse nach Dosierung von 50mg% NNM über 21 Tage, 2/3 Teilhepatektomie 40, 75 und 290 Tage nach Absetzen von NNM. Tötung jeweils 10 Tage nach Teilhepatektomie.
Die Markierungs- und Mitoseindices der Restparenchyme, aber auch der Glykogenspeicherherde liegen deutlich über jenen Werten ohne Teilhepatektomie (Figur 3).
Während bei jenen Tieren, bei denen die Teilhepatektomie 40, bzw. 75 Tage nach Absetzen von NNM vorgenommen wurde, die Restparenchyme etwas häufiger als die Glykogenspeicherherde markiert sind, bleibt bei den Tieren, bei denen die Teilhepatektomie 290 Tage nach Absetzen von NNM vorgenommen wurde, die Markierung des Restparenchyms hinter der Markierung der Glykogenspeicherherde.

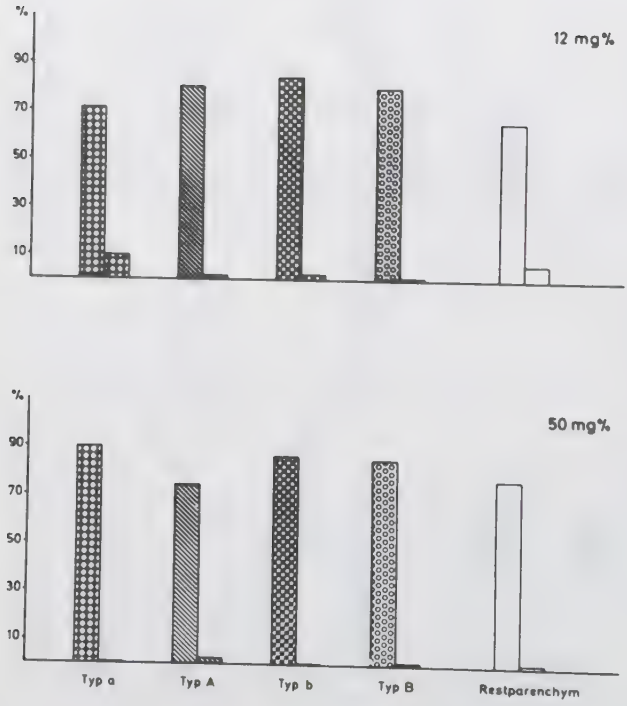
In den Figuren 5 und 6 wurden die durchschnittlichen Markierungs- und Mitoseindices der einzelnen Versuchsbedingungen nochmals zusammenfassend dargestellt.
Wie bereits oben ausführlich dargestellt, sieht man hier übersichtlich, daß in den nicht hepatektomierten Gruppen der Markierungs- und Mitoseindex glykogenspeichernder praeneoplastischer Herde eindeutig höher als im nicht veränderten Restparenchym der Versuchstiere liegt. Bei den zusätzlich hepatektomierten Tieren zeigt das Restparenchym den üblichen starken Anstieg neugebildeter Zellen. Die praeneoplastischen Herde in diesen Lebern weisen jedoch in der Regel eine noch etwas stärkere Markierung auf.




Figur 4: Glykogenspeicherherde nach NNM (50mg%, 21d)
+ 2/3 Teilhepatektomie
Markierungsindex (10d Dauerinfusion), Mitoseindex




Figur 5: Glykogenspeicherherde nach NNM.
Durchschnittlicher Markierungsindex (10d Dauerinfusion), Mitoseindex




Figur 6: Glykogenspeicherherde nach NNM
Durchschnittlicher Markierungsindex (10d Dauerinfusion), Mitoseindex

e) Vergleich der vier Gruppen Glykogenspeicherherde

In der Mehrzahl der in obigen Figuren dargestellten Verhältnissen zeigen die B-Herde höhere Markierungsindices als die A-Herde. Entsprechend war bei den b-Herden eine größere Anzahl Zellkerne markiert als bei den a-Herden.
Grob vereinfach läßt sich sagen:
Je höher die Zahl der die Herde bildenden Zellen, desto höher der Anteil der zur Proliferation fähigen Zellen.
Und weiter:
Je größer die Zellkerne der Glykogenspeicherherdzellen, desto eher besteht die Wahrscheinlichkeit, daß in den Kernen DNS synthetisiert wird.
Glykogenspeicherherde, die aus einer größeren Anzahl an Zellen bestehen und deren Zellkerne deutlich größer sind als die Zellkerne des Restparenchyms, haben höhere Markierungsindices als Glykogenspeicherherde, die aus einer geringen Anzahl an Zellen bestehen und deren Zellkerne nicht größer sind als die Zellkerne des Restparenchyms.

Kernvergrößerungen im Leberparenchym unter Carcinogengabe waren auch von anderen Untersuchern immer wieder beschrieben worden. Grundmann und Mitarbeiter (1954) sowie Stiller (1968) führten die Ausbildung von Großkernen auf Carcinogenbedingte Endomitosen und Polyploidisierung zurück. Daneben wurde häufig auch auf das Vorhandensein einer funktionellen Kernschwellung hingewiesen.
In den Stopversuchen erwiesen sich die Carcinogen-induzierten Kernvergrößerungen als weitgehend reversibel (ROMEN, ROSS u. BANNASCH, 1972).
In unseren Stopversuchen waren auch längere Zeit nach Absetzen des Carcinogens in großer Zahl Glykogenspeicherherde aufgetreten, die von Zellen mit relativ großen Kernen gebildet wurden (b-Herde u. B-Herde).
Dafür bietet sich folgende Erklärung an:
Selbst in der normalen Leber finden sich drei Kerngrößen-

klassen, deren Volumina zueinander im Verhältnis von 1:2:4 stehen (JAKOBI, 1925). Den verschiedenen Volumina entsprechen diploide, tetraploide und oktoploide Kerne (vgl. VENDRELY, 1965; GRISHAM, BANSON u. HARTROFT, 1960). Es käme zum Auftreten von Herden mit großen Zellkernen, weil eben nicht nur Zellen mit kleinem Zellkern zur Glykogenspeicherzelle würden,sondern auch die physiologischerweise größeren und deren Tochterzellen.
Übereinstimmend mit anderen Untersuchern kann somit das Auftreten von Kernvergrößerungen nicht als Zeichen einer präcancerösen Zellreaktion gewertet werden (ROMEN, ROSS u. BANNASCH, 1972).

4. Der Markierungsindex von Glykogenspeicherherden in Abhängigkeit von der Zeit nach Absetzen von NNM

Die in den Tabellen 9 und 10 zusammengestellten durchschnittl. Markierungsindices aller Glykogenspeicherherde und Restparenchyme in Abhängigkeit von der Zeit nach Absetzen von NNM wurden in den Figuren 7-8 zeichnerisch dargestellt.
Daraus ist ersichtlich, daß sich die Markierungsindices im Laufe der Zeit aneinander annähern. Eine Ausnahme bilden die in Figur 8b dargestellten Werte. Die Annäherung erfolgt durch Abfallen der Werte in den Glykogenspeicherherden und durch allmähliches Ansteigen der Werte in den Restparenchymen.
Das Ansteigen der Markierungsrate in den Restparenchymen läßt sich evtl. folgendermaßen erklären:
In der akuten Vergiftungsphase und einige Zeit danach führt das Carcinogen zu toxischen Parenchymnekrosen, zu deren vollständigen Reparation es in dem noch toxisch beeinflußten Lebergewebe nicht ganz kommen kann. Erst wenn die Vergiftungserscheinungen einigermaßen abgeklungen sind, kann sich der Nekrose-bedingte Regenerationsimpuls voll durch-

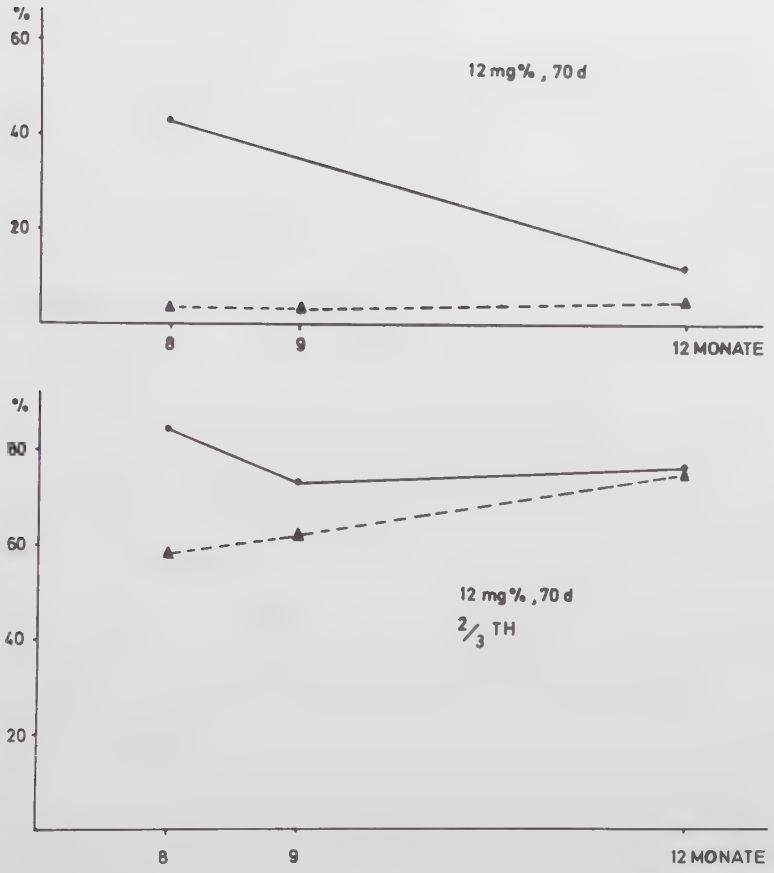
setzen. Warum es bei den in Figur 8b dargestellten Verhältnissen nicht auch zu der oben beschriebenen Annäherung der Markierungsraten zwischen Glykogenspeicherherden und Restparenchym kommt, steht offen.
Das Abfallen der Werte in den Glykogenspeicherherden könnte dadurch bedingt sein, daß die praeneoplastisch veränderten Zellen im Lauf der Zeit nach dem Absetzen des Carcinogens ihre übermäßige Tendenz zur Proliferation verlieren und sich in ihrem Verhalten dem Restparenchym wieder angleichen.
Nach jüngsten, noch nicht veröffentlichten Untersuchungsergebnissen von Morath und Heine (1980) muß jedoch an einen ganz anderen Aspekt gedacht werden.
Die Untersucher stellten nämlich fest, daß im Laufe der Zeit nach Absetzen des Carcinogens Zellen aus dem Verband der Glykogenspeicherherde verlorengehen, indem sie entweder nach Nekrose phagozytiert oder in die Lunge embolisiert werden.
Die tatsächlich vorhandene Proliferationsrate der Glykogenspeicherherde würde demnach über den in den Autoradiogrammen gemessenen Werten liegen.
Aus den Figuren 7-8 ist weiter ersichtlich, daß nach der Teilhepatektomie die Markierungsindices der Restparenchyme relativ mehr ansteigen als die Markierungsindices der Glykogenspeicherherde, so daß die Werte nach Teilhepatektomie schon frühzeitig näher beieinander liegen als ohne Teilhepatektomie.
Auch für dieses Bild könnte der von Morath und Heine beobachtete "Zellverlust" verantwortlich sein.
Infolge der Teilhepatektomie steigt der Blutfluß in den Lebersinusoiden des verbleibenden Lebergewebes an und schwemmt praeneoplastisch veränderte Leberepithelien aus ihrem Zellverband. Dies wird dadurch begünstigt, daß praeneoplastische Leberzellen durch Veränderungen in der äußeren Zellmembran und Mangel an Desmosomen nur locker mit ihren Nachbarzellen verbunden sind. (vgl. WARREN Rev. 1978, PITOT 1964, De PARMENTIER et. al. 1979).

| Tage nach Absetzen von 12mg% NNM | 247 | 275 | 353 |
|---|---|---|---|
| Glykogenspeicherherde ohne Teilhepatektomie | 43,6 | --- | 17,2 |
| Restparenchym | 3,7 | 3,2 | 5,8 |
| Glykogenspeicherherde mit Teilhepatektomie | 85,7 | 73,2 | 76,5 |
| Restparenchym | 58,2 | 62,9 | 76,0 |

Tab. 9 Durchschnittl. Markierungsindices aller Glykogenspeicherherde und Restparenchyme in Abhängigkeit von der Zeit nach Absetzen von NNM 12mg%

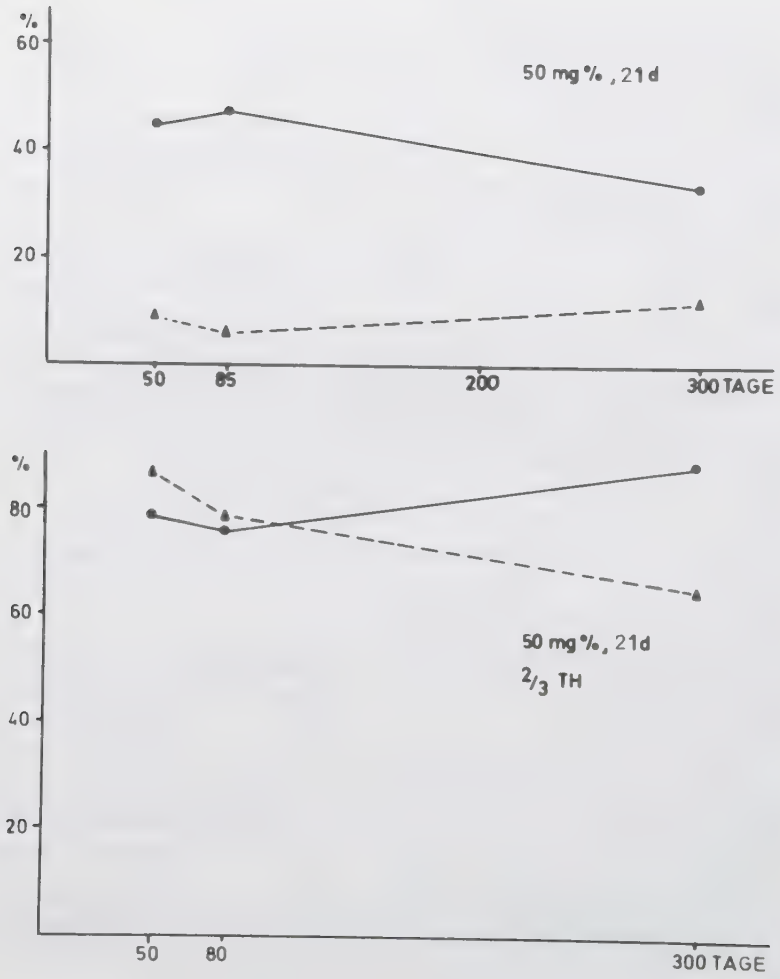
| Tage nach Absetzen von 50mg% NNM | 50 | 85 | 285 | 292 |
|---|---|---|---|---|
| Glykogenspeicherherde ohne Teilhepatektomie | 44,8 | 47,3 | 38,8 | 33,2 |
| Restparenchym | 9,7 | 6,2 | 5,1 | 12,6 |
| Glykogenspeicherherde mit Teilhepatektomie | 78,2 | 75,8 | --- | 87,8 |
| Restparenchym | 87,4 | 78,9 | --- | 65,3 |

Tab. 10 wie in Tab. 13, jedoch nach 50mg% Dosierung




Figur 7a + b: Glykogenspeicherherde nach NNM
Markierungsindex (10d Dauerinfusion)

GLYCOGENSPEICHERHERDE
RESTPARENCHYM




Figur 8a + b: Glykogenspeicherherde nach NNM
Markierungsindex (10d Dauerinfusion)
●—● GLYCOGENSPEICHERHERDE
▲--▲ RESTPARENCHYM

Die in unserer Arbeit gefundene Proliferationssteigerung als Antwort auf die Teilhepatektomie dürfte also in Wirklichkeit weit höher liegen.
Es wäre demnach sicher falsch zu behaupten, die Glykogenspeicherherde hätten eine gewisse Wachstumsautonomie erlangt, nur weil sie auf die Teilhepatektomie scheinbar nicht mit so excessiver Proliferationssteigerung reagierten wie das Restparenchym.
Der Anschaulichkeit wegen wurden die soeben geschilderten Ergebnisse nochmals in den Figuren 9-12 dargestellt.

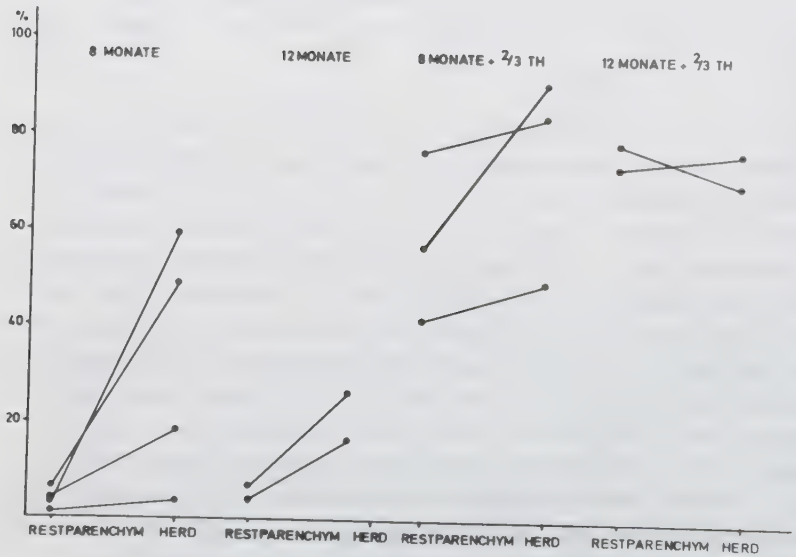
Scherer und Emmelot (1975) formulierten bei ihren Enzymdefektherden ein teilweises Loslösen von den Wachstumsregulationen der Leber, da ihre Herde ebenfalls stärker proliferierten als das Restparenchym. Sie beobachteten aber andererseits auch keine absolute Wachstumsautonomie ihrer Herde, da sie auf eine Teilhepatektomie wie das Restparenchym mit verstärkter Zellproliferation reagierten.

Unsere Ergebnisse stehen also in Einklang mit den Ergebnissen anderer Untersucher. Wie unter der Einwirkung anderer carcinogener Gifte, z.B. 3-Dimethylaminoazobenzol (MAINI u. STICH, 1962), Diethylnitrosamin (RABES, SCHOLZE u. HARTENSTEIN, 1970) oder 2-Acethylaminofluoren (KITAGAWA, 1971) ist auch nach Einwirkung unseres Carcinogens N-Nitrosomorpholin die Fähigkeit des Leberparenchyms, auf eine Hepatektomie mit einer starken Zellproliferation zu reagieren, eingeschränkt. Auch bei uns ist der Effekt innerhalb einiger Zeit reversibel (vgl. MAINI u. STICH, 1962; KITAGAWA, 1971). Wie bei Kitagawa (1971) und bei Rabes (1970, 1972) hatten die "hyperplastischen Areale" der präcancerösen Rattenleber auf die partielle Hepatektomie ebenso wie das normale Restparenchym mit einer Steigerung der Proliferation reagiert.

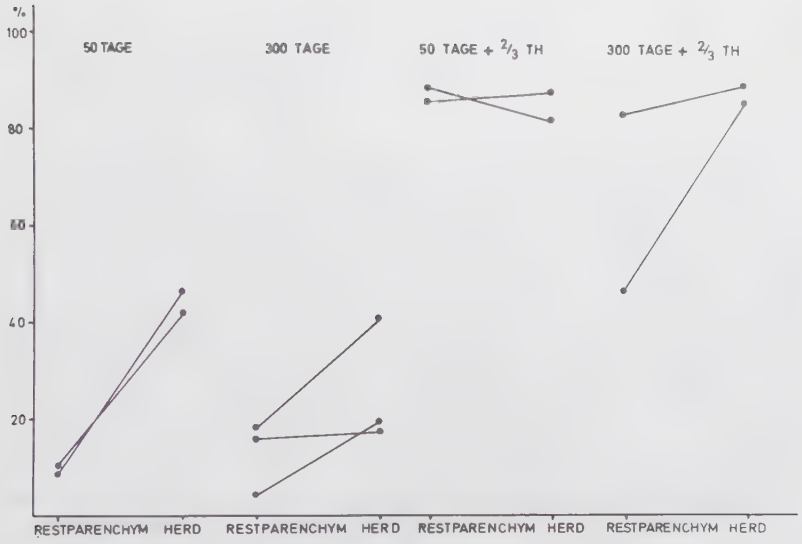
Die erhöhten Markierungsindices der Glykogenspeicherherde hatten sich im Laufe der Zeit scheinbar wieder den Werten des Restparenchyms angeglichen.

Es bietet sich eine interessante Aufgabe für die Zukunft, die gefundenen Ergebnisse unter dem Aspekt eines möglichen Zellverlustes nach Absetzen des Carcinogens nachzuprüfen.

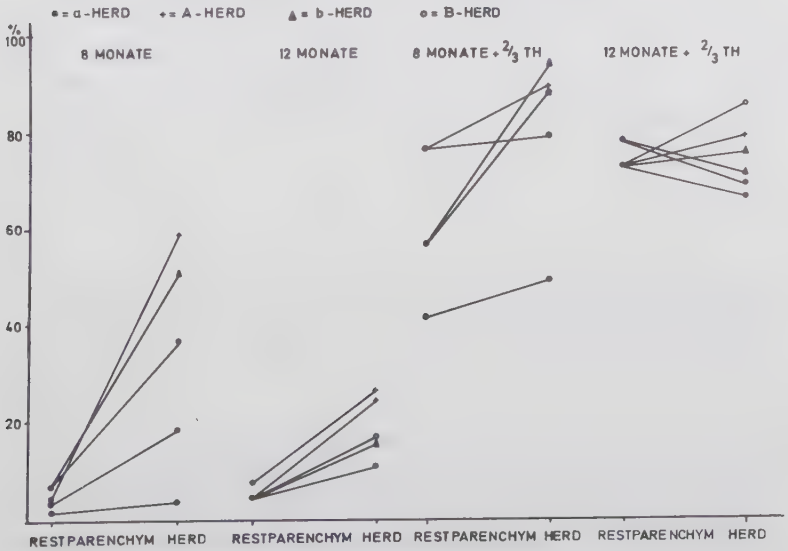
Unter unseren Versuchsbedingungen jedenfalls ergaben sich keinerlei Anhaltspunkte, daß die Glykogenspeicherherde bereits ein autonomes Wachstum aufweisen.



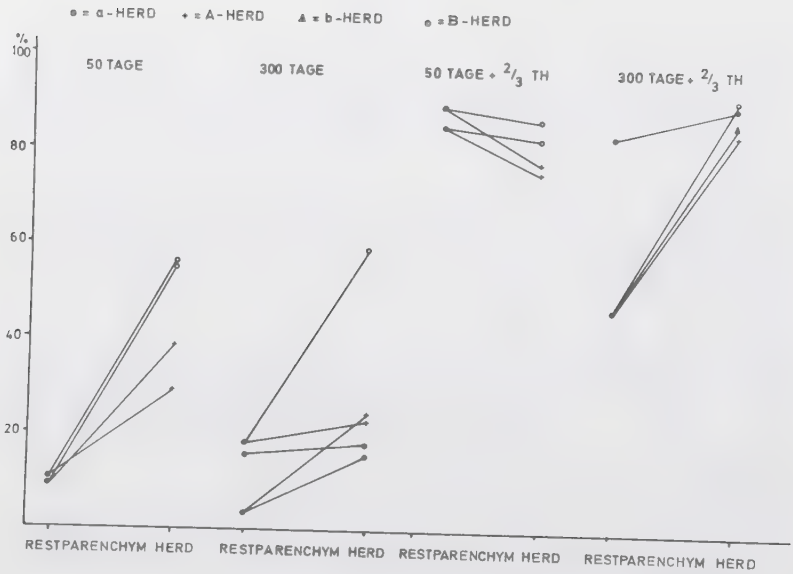

Figur 9: Glykogenspeicherherde nach NNM (12mg%,7Od)
Markierungsindex




Figur 10: Glykogenspeicherherde nach NNM (50mg%, 21d)
Markierungsindex




Figur 11: Glykogenspeicherherde nach NNM (12mg%, 70d)
Markierungsindex




Figur 12: Glykogenspeicherherde nach NNM (50mg%, 21d)
Markierungsindex

## D. Z U S A M M E N F A S S U N G

Eben ausgewachsene, männliche Sprague-Dawley-Ratten erhielten N-Nitrosomorpholin entweder in der Konzentration von 50mg% für 21 Tage (durchschnittlich aufgenommene Giftmenge 138mg) oder 12mg% für 70 Tage (durchschnittlich aufgenommene Giftmenge 167mg) im Trinkwasser kontinuierlich appliziert. Zu verschiedenen Zeiten nach Absetzen des Giftes wurden Gruppen von jeweils 8 Tieren aus einer Versuchsreihe gebildet, die zur genaueren Ermittlung von Proliferationsraten eine 10-tägige $^{3}$H-Thymidin-Dauerinfusion zur Erfassung aller in dieser Zeit neugebildeten Zellelemente erhielten. Jeweils 4 Tiere aus einer solchen Gruppe wurden vor Beginn der Dauerinfusion 2/3 teilhepatektomiert.
Die histologischen und autoradiographischen Untersuchungen an den später gewonnenen Regeneraten der Leber standen unter der Fragestellung, ob die N-Nitrosomorpholin-induzierten praeneoplastisch veränderten Leberepithelien in Form von Glykogenspeicherherden noch den normalen Wachstumsmechanismen der Leber gehorchen oder bereits ein autonomes Wachstumsverhalten aufweisen und schon als Tumorzellen zu werten sind.

Die Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Glykogenspeicherherde treten sowohl mit als auch ohne Begleitcirrhose auf. Eine Lebercirrhose ist wahrscheinlich nicht als obligate Vorstufe der Hepatocarcinogenese anzusehen.

2. Je länger der Zeitraum zwischen Absetzen des Carcinogens und Tötungszeitpunkt, desto mehr Glykogenspeicherherde treten auf und umso verschiedenartiger sehen sie aus. Die Befunde sprechen für die Existenz uneinheitlicher Gruppen von klaren Glykogenspeicherherden.

3. Erste Glykogenspeicherzellen treten periportal auf. Die schon physiologischerweise höhere Teilungsaktivität der Peripherie könnte das Manifestwerden von Störungen auf genetischer Ebene begünstigen.

4. Das Ausmaß der DNS-Synthese der Glykogenspeicherherdzellen steht in gewisser Relation zur DNS-Synthese des Restparenchyms. Eine höhere Teilungsaktivität begünstigt das Manifestwerden genetischer Störungen.

5. Die Proliferation des Leberparenchyms nach Carcinogengabe ist gesteigert, möglicherweise bedingt durch einen toxischen Effekt und darauffolgende Reparation der toxischen Parenchymnekrosen.

6. Die Proliferation der Glykogenspeicherherde liegt eindeutig höher als die Proliferation des Restparenchyms.

7. Das Leberparenchym reagiert nach NNM-Behandlung auf den Proliferationsreiz einer 2/3 Teilhepatektomie (TH) mit enormem Proliferationsanstieg, jedoch geringer als ohne NNM-Behandlung. Die Glykogenspeicherherde reagieren auf den Proliferationsreiz eindeutig stärker als das Restparenchym. Sie zeigen eindeutig die höchste Proliferationsrate.

8. Die unter 5., 6. und 7. genannten Phänomene könnten ihre Erklärung darin finden, daß praeneoplastisch transformierte Zellen den Schritt von der Funktionsphase in die Proliferationsphase rascher und leichter vollziehen können als ihre nicht veränderten Nachbarzellen. Gleichzeitig hindern sie diese am $G_o$-$G_1$-Schritt des Zellzyklus. Dadurch hätten die einzelnen praeneoplastischen Zellen einen Proliferationsvorteil erlangt, der einmal die Voraussetzung für das Durchlaufen mehrerer Zellzyklen zur Realisation des Carcinoms darstellt, zum anderen die un-

veränderte Restpopulation von Leberzellen am Wachstum hinderte.

9. Je höher die Dosierung des Carcinogens, desto stärker die Proliferation des Restparenchyms. Die Proliferation der Glykogenspeicherherde ohne TH ist nicht eindeutig dosisabhängig.

10. Glykogenspeicherherde, die aus einer größeren Anzahl an Zellen bestehen und deren Zellkerne deutlich größer sind als die Zellkerne des Restparenchyms, haben höhere Markierungsindizes als Glykogenspeicherherde, die aus einer geringeren Anzahl an Zellen bestehen und deren Zellkerne nicht größer als die Zellkerne des Restparenchyms sind.

11. Im Laufe der Zeit nach Absetzen von NNM kommt es zu einem Proliferationsanstieg der Restparenchyme, wahrscheinlich infolge Reparation toxischer Parenchymnekrosen, zu deren Korrektur es in dem anfänglich noch toxisch beeinflußten Lebergewebe nicht ganz kommen konnte.

12. Im Laufe der Zeit nach Absetzen des Carcinogens kommt es scheinbar zu einem Proliferationsabfall der Glykogenspeicherherde. Möglicherweise spielt dabei jedoch ein Zellverlust infolge von Nekrosen bzw. Embolisierung in die Lunge eine Rolle.

13. Nach TH ist der Proliferationsanstieg des Restparenchyms relativ stärker als der Proliferationsanstieg der Glykogenspeicherherde. Der infolge TH vergrößerte Blutfluß in den Lebersinusoiden des verbleibenden Lebergewebes könnte eventuell die in 12. genannten Embolisierungen von Glykogenspeicherherdzellen in die Lunge begünstigt haben.

14. Da die Glykogenspeicherzellen deutlich auf den Proliferationsreiz einer TH reagieren, ist anzunehmen, daß praeneoplastisch veränderte Leberepithelien noch den Wachstumsregulationsmechanismen der normalen Leber unterliegen.

Herrn Professor Dr. med. M.-O. Heine danke ich herzlich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die [illegible] der Arbeit.

Herrn Professor Dr. med. S.-M. Altmann danke ich für die Übernahme des Korreferates.

# L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

ALTMANN, H.-W.:
Pathology of human liver tumours. In: Primary liver tumours. Remmer, H. et al. (eds.), pp. 53-71. Lancaster: MTP Press 1978

- Der Zellersatz, insbesondere an den parenchymatösen Organen. Verh.Dtsch.Ges.Path.50, 15-53 (1966)

ANTHONY, P.P.:
Precursor lesions for liver cancer in humans. Cancer Res., 36, 2579 (1976)

BANNASCH, P.:
Cytology and cytogenesis of neoplastic (hyperplastic) hepatic nodules. Cancer Res., 36, 2555 (1976)

- Dose - Dependence of Early Cellular Changes during Liver Carcinogenesis. Quantitative Aspects of Risk Assessment in Chemical Carcinogenesis. Arch. Toxicol., Suppl. 3, 111-128 (1980)

BANNASCH, P., HACKER, H.J., Mayer, D.:
Early biological markers during liver carcinogenesis. Arch. Toxicol., Suppl. 2, 145-155 (1979a)

BANNASCH, P., HESSE, I., ANGERER, H.:
Hepatozelluläre Glykogenose und die Genese sogenannter hyperplastischer Knoten in der Thioacetamid-vergifteten Rattenleber. Virchows Archiv (Cell.Pathol.) 17, 29-50 (1974)

BANNASCH, P., MAYER, D., KRECH, R.: Neoplastische und präneoplastische Veränderungen bei Ratten nach einmaliger oraler Applikation von N-Nitrosomorpholin. Z. Krebsforsch. 94, 233-248 (1979b)

BANNASCH, P., MAYER, D. u. HACKER, H.J.:
Hepatocellular Glycogenosis and Hepatocarcinogenesis, Biochemica et Biophysica Acta 605, 217-245 (1980)

BANNASCH, P., MÜLLER, H.A.:
Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Wirkung von N-Nitrosomorpholin auf die Leber von Ratte und Maus. Arzneim.-Forsch. 14, 805-814 (1964)

BANNASCH, P., PAPENBURG, J., ROSS, W.:
Cytomorphologische und morphometrische Studien der Hepatocarcinogenese. I. Reversible und irreversible Veränderungen am Cytoplasma der Leberparenchymzellen bei Nitrosomorpholin-vergifteten Ratten. Z. Krebsforsch. 77, 108-133 (1972)

BARBASON, H., FRIDMAN-MANDUZIO, E.H. BETZ:
Long Term Effects of a Single Dose of Dimethylnitrosamine on the Rat Liver. Z. Krebsforsch. 84, 135-142 (1975)

BECKER, F.F.:
Sequential phenotypic and biochemical alterations during chemical hepatocarcinogenesis. Cancer Res., 36, 2563 (1976)

CANTFORT van, J., BARBASON, H.:
Influence of a Chronic Administration of Diethylnitrosamine on the Relation Between specific Tissular and Division Funktions in the Rat Liver. Europ. Cancer Vol. 11, 531-536 (1975)

CAYAMA, E., TSUDA, H., SARMA, D.S., FARBER, E.:
Initiation of chemical carcinogenesis requires cell proliferation. Nature, 275, 60-62 (1978)

CRADDOCK, V.M.: Cell proliferation and experimental liver cancer. In: Liver cell cancer. Linsell, C.A., Warwick, G.P. (eds.), 153-201 (1976) Amsterdam: Elsevier Press

- Cell proliferation and induction of liver cancer. In: Primary liver tumors. Remmer, H. et al., (eds.) 377-383 (1978) Lancaster: MTP Press

DAOUST, R., CALAMAI, R.:
Hyperbasophilic foci as sites of neoplastic transformation in hepatic parenchyma. Cancer Res. 31, 1290-1296 (1971)

DAOUST, R., MOLNAR F.:
Cellular populations and mitotic activity in rat liver parenchyma during azo dye carcinogenesis. Cancer Res. 24, 1898-1909 (1964)

EPSTEIN, Sh., ITO N., MERKOW, L., FARBER, E.:
Cellular analysis of liver carcinogenesis: the induction of large hyperplastic nodules in the liver with 2-fluorenylacetamide or ethionine and some aspects of their morphology and glycogen metabolism. Cancer Res. 27, 1702-1711 (1967)

FARBER, E.:
Hepatic carcinogenesis. In H. Popper and F. Schaffner (eds.). Progress in Liver Disease, Vol. 4, 173-182 (1972) New York: Grune and Stratten

- Hyperplastic areas, hyperplastic nodules, and hyperbasophilic areas as putative precursor lesions. Cancer Res. 36, 2532 (1976)

- The Pathology of Experimental Liver Cancer. In H.M. Cameron, D.A. Linsell and G.P. Warwick (eds.). Liver

Cell Cancer, 243-277 (1976) Amsterdam: Elsevier/ North-Holland Biomed. Press

- Experimental liver carciongenesis: A perspective. In: Primary liver tumors (Eds. H. Remmer, H.M. Bolt, P. Bannasch, H. Popper) 357-376 (1978) MTP Press Ltd.

FRIEDRICH-FREKSA, H., GÖSSNER, W., BÖRNER, P.: Histochemische Untersuchungen der Cancerogenese in der Rattenleber nach Dauergaben von Diäthylnitrosamin. Z. Krebsforsch. 72, 226-239 (1969)

GRASSO, P., GRAY, T.J.B.: Long-term studies on chemically induced liver enlargement in the rat. III. Structure and behaviour of the hepatic nodular lesions induced by Ponceau MX. Toxicology 7, 327-347 (1977)

GRUNDMANN, E., SIEGBURG, H.: Die Histogenese und Cytogenese des Leberparenchyms der Ratte durch Diäthylnitrosamin im lichtmikroskopischen Bild. Beitr.path.Anat. 126, 57-90 (1962)

HEINE, W.-D.: Das kompensatorische Nierenwachstum und seine Regulation. Med. Habil.-Schrift Würzburg 1973

- Die Zellproliferation der Niere unter normalen und pathologischen Bedingungen. Med. Diss. Würzburg 1968

HEINE, W.-D., BRAUN, A., BANNASCH, P.: The kinetics of cell proliferation in the rat liver during the application of N-Nitrosomorpholine in different concentrations. X. Internat. Congress, Internat. Acad. Pathol. abstract of papers, 41, Hamburg 1974

HEINE, W.-D., HADITSCH, K.O., BRAUN, A.: Zum Wachstum N-Nitrosomorpholin-induzierter präneoplastischer Herde in der Rattenleber. Histochemische und autoradiographische Untersuchungen mit $^{3}$H-Thymidin-Dauerinfusionen. Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 63, 520 (1979)

HEINE, W.-D., STÖCKER, E.: Zum Proliferationsmodus der Rattenleber nach modifizierter Teilhepatektomie. Klin. Wschr. 46, 395-396 (1968) b

HESSE, J.: Cirrhogenese und Carcinogenese in der Thioacetamid-vergifteten Rattenleber. Inaug.-Diss. Würzburg 1972

IVERSEN, O.H.:
Kinetics of cellular proliferation and cell loss in human carcinomas: A discussion of methods available for in vivo studies. Eur. J. Cancer 3. 389ff

KARASAKI, S.:
Ultrastructural and cytochemical studies on hyperbasophilic foci with special reference to the demonstration of cell surface alterations in hepatocarcinogenesis. Cancer Res. 36, 2567 (1967)

KITAGAWA, T.:
Responsiveness of hyperplastic lesions and hepatomas to partial hepatectomy. Gann, 62, 217-224 (1971)

- Sequential phenotypic changes in hyperplastic areas during hepatocarcinogenesis in the rat. Cancer Res. 36, 2534 (1976)

MORATH, R., HEINE, W.-D.:
The Role of Cellular Loss in N-Nitrosomorpholine-induced Hepatocarcinogenesis of the Rat. 1980 unveröffentlicht

NEWBERNE, Paul M.:
Experimental Hepatocellular Carcinogenesis. Cancer Res. 36, 2573-2578 (1976)

OEHLERT,W.:
Cellular Proliferation in Carcinogenesis. Cell Tissue Kinet. 6, 325-335 (1973)

PUGH, T.D., GOLDFARB, S.:
Quantitative histochemical and autoradiographic studies of hepatocarcinogenesis in rats fed 2-Acetylaminofluorene followed by phenobarbital. Cancer Res. 38, 4450-4457 (1978)

RABES, H.M.:
Proliferative Vorgänge während der Frühstadien der malignen Transformation. Verh. Dt. Ges. Path. 63 18-39 (1979)

RABES, H.M., CARL, P., MEISTER, P., RATTENHUBER, U.:
Analysis of proliferative compartments in human tumors. Cancer 44, 789-813 (1979)

RABES, H.M., HARTENSTEIN, R., RINGELMANN, W.:
DNA-Synthesis in Rat Liver during Early Stages of Azo Dye-induces Hepatocarcinogenesis. Cancer Res. 32, 83-89 (1972)

RABES, H., HARTENSTEIN, R., SCHOLZE, P.:
Hemmung der Proliferationsaktivität partiell resezierter Leber durch Diethylnitrosamin. Z. Krebsforschung 73, 239-241 (1970)

RABES, H.M., SCHOLZE, P., JANTSCH, B.:
Growth kinetics of diethylnitrosamine - induced, enzyme-deficient "preneoplastic" liver cell populations in vivo and in vitro. Cancer Res. 32, 2577-2586 (1972)

RABES, H.M., SCHOLZE, P., HARTENSTEIN, R.:
Spezifische Stadien im Wachstumsverhalten präneoplastischer Zellen während der Cancerogenese. Verh. Dt. Ges. Path., 54, 428-433 (1971)

RABES, H.M., SZYMKOWIAK, R.:
Cell kinetics of hepatocytes during the preneoplastic period of diethylnitrosamine-induced liver carcinogenesis.

ROMEN, W., BANNASCH, P.:
Karyokinese und Kernstruktur. I. Mitosen und Mitosenstörungen in Hepatocyten und Hepatomzellen der Nitrosomorpholin-vergifteten Rattenleber. Virchows Arch. Abt. B 11, 24-33 (1972)

ROMEN, W., BANNASCH, P., unter Mitarbeit von Aziz, A., REUSS, W.:
Karyokinese und Kernstruktur während der Hepatocarcinogenese. II. Die Feinstruktur des Zellkerns in Hepatocyten und Hepatomzellen der Nitrosomorpholin-vergifteten Rattenleber. Virchows Archiv (Cell. Pathol.) 13, 267-269 (1973)

ROMEN, W., ROSS, W., BANNASCH, P.: Cytomorphologische und morphometrische Studien der Hepatocarcinogenese. II. Die Reversibilität von Kerngrößenänderungen in der Nitrosomorpholin-vergifteten Rattenleber. Z. Krebsforschung 77, 134-140 (1972)

SASAKI, T., YOSHIDA, T.:
Experimentelle Erzeugung des Lebercarcinoms durch Fütterung mit O-Amidoazotoluol. Virchow's Arch. Path. Anat. Physiol. 295, 175 (1935)

SCHAUER, A., KUNZE, E.:
Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen während der Cancerisierung der Rattenleber mit Diäthylnitrosamin. Z. Krebsforsch. 70, 252-266 (1968)

SCHERER, E., EMMELOT, P.:
Foci of altered liver cells induced by a single dose of diethylnitrosamine and partial hepatectomy - Their contribution to hepatocarcinogenesis in rat. Eur. J. Cancer 11, 145-154 (1975a)

- Kinetics of induction and growth of precancerous liver-cell foci and liver tumour formation by diethylnitrosamine in rat. Eur. J. Cancer 11, 689-696 (1975b)

- Kinetics of induction and growth of enzyme-deficient islands involved in hepatocarcinogenesis. Cancer Res. 36, 2544-2554 (1976)

SCHERER, E., HOFFMANN, M., EMMELOT, P., FRIEDRICH-FREKSA, H.:
Quantitative study on foci of altered liver cells induced in the rat by a single dose of diethylnitrosamine and partial hepatectomy. J.Natl. Cancer Inst. 49, 93-106 (1972)

SCHMITZ-MOORMANN, P., GEDIGK, P., DHARAMADHACH, A.:
Histolog. und histochemische Frühveränderungen bei der experimentellen Erzeugung von Lebercarcinomen durch Diäthylnitrosamin. Z. Krebsforsch. 77, 9-16 (1972)

SCHULTE-HERRMANN, R., OHDE, G., SCHUPPLER, J.:
Proliferation präneoplastischer Zellen unter dem Einfluss von Wachstumsreizen. Verh. Dt. Ges. Path. 63, 468-472 (1979)

SCHULTE-HERRMANN, R., SCHUPPLER, J.:
Wachstumskontrolle in präneoplastischen Leberzellen. DFG-Konferenz Präneoplastische Zellveränderungen, 24./25.3.1980, Hotel "Weitenburg"

SIVAK, A.:
Cocarcinogenesis. Biochim. Biophys. Acta 560, 67-89 (1979)

SOLT, D., MEDLINE, A., FARBER, E.:
Emergence of carcinogen-induced hyperplastic lesions in a new model for sequential analysis of liver carcinogenesis. Am. J. Path. 88, 595-609 (1977)

STEEL, G.G.:
Delayed uptake by tumours of tritium from thymidine. Nature, 210, 806-808 (1966)

- Cell loss as a factor in the growth rate of human tumors. Eur. J. Cancer 3, 381-387 (1967)

- Cell loss from experimental tumours. Cell Tiss. Kinetics 1, 193-207 (1968)

STEEL, G.G.:
Growth kinetics of tumours. Oxford, Clarendon Press (1977)

STÖCKER, E.:
Der Proliferationsmodus in Niere und Leber. Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 53-74 (1966)

STÖCKER, E., BACH, G.:
Zur Proliferation und DNS-Syntheserate des Leberparenchyms nach Teilhepatektomie. Naturwissenschaften 52, 264-265 (1965)

STÖCKER, E., PFEIFER, U.:
Zum Proliferationsmodus des Leberparenchyms nach Teilhepatektomie. Naturwissenschaften 52, 663 (1965)

STÖCKER, E., PFEIFER, U.:
Autoradiographische Untersuchungen mit $^{3}$H-Thymidin an der regenerierenden Rattenleber. Z. Zellforsch. 79, 374-388 (1967)

STÖCKER, E., SCHULTZE, B., HEINE, W.-D., LIEBSCHER, H.:
Wachstum und Regeneration in parenchymatösen Organen der Ratte. Z. Zellforsch. 125, 306-331 (1972)

STÖCKER, E., WULLSTEIN, H.K., FRIEDERICHS, K.-H., FRIEDERICHS,C.:
Cell Proliferation, RNA and Protein Synthesis during Carcinogenesis in the Rat Liver. Beitr. Path. 150, 188-196 (1973)

SYDOW, G., FEY, F.:
Über die Glykogenose der Rattenleber nach Einwirkung von Diäthylnitrosamin. Acta Biol. Med. Germ. 23, K 9-13 (1969)

SYDOW, G., SYDOW, H.:
Die Wirkung kurzdauernder Verabreichung von cancerogenen Stoffen auf den Glykogengehalt sowie auf die Hexokinase- und Glukokinaseaktivität der Rattenleber. Acta Biol. Med. Germ. 14, 468-475 (1965a)

- Die Wirkung von Diäthylnitrosamin bei unterschiedlicher Dosierung auf die Hexokinase- und Glukokinaseaktivität sowie den Glycogengehalt der Rattenleber. Acta Biol. Med. Germ. 15, 20-29 (1965b)

TATEMATSU, M., MURASAKI, G., NAKANISHI, K., MIYATA, Y., SHINOHARA, Y., ITO, N.:
Sequential quantitative studies on hyperplastic nodules in the liver of rats treated with carcinogenic chemicals. Gann 70, 125-130 (1979)

TEEBOR, G.W., BECKER, F.F.:
Regression and persistence of hyperplastic hepatic nodules induced by N-2-Fluorenylacetamide and their relationship to Hepatocarcinogenesis. Cancer Res. 31, 1-3 (1971)

TUBIANA, M.:
The kinetics of tumor cell proliferation and radiotherapy. Brit. J. Radiol. 44, 325ff

WARREN, L., BUCK, C.A., TUSZYNSKI, G.P.:
Glycopeptide changes and malignant transformation. A possible role for carbohydrate in malignant behaviour. Biochim. Biophys. Acta 516, 97-127 (1978)

WILLIAMS, G.M.:
Functional markers and growth behavior of prenoeplastic hepatocytes. Cancer Res., 36, 2540 (2976)

# L E B E N S L A U F

| | |
|---|---|
| Vor- und Zuname: | Karl-Otto Haditsch |
| Geburtsdatum: | 12.11.53 |
| Geburtsort: | Gerabronn |
| Eltern: | Peter Haditsch, Textiling.<br>Ruth Haditsch, geb. Galle |
| Staatsangehörigkeit: | deutsch |
| Schulbildung: | Volksschule Gerabronn<br>1961-1965<br>Progymnasium Gerabronn<br>1965-1967<br>Schloß-Schule Kirchberg/Jagst<br>1967-1970<br>Albert-Schweitzer-Gymnasium<br>Crailsheim, 1970-1973, dort<br>Reifeprüfung 1973 |
| Studium: | Medizin an der Julius-Maximilians-<br>Universität Würzburg 1973-1980 |
| Staatsexamen: | Mai 1980 an der Universität<br>Würzburg |
| Derzeitige Tätigkeit: | Assistenzarzt in einer inter-<br>nistischen Landpraxis |

Karl-Otto Haditsch

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80